

РЕДОКС-СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК МИОКАРДА, ТОНУС КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ И СОКРАТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СЕРДЦА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

Дорошенко А.С., Солодков А.П., Шебеко В. И.

Государственный медицинский университет, г. Витебск

Функциональная активность клеток и компартментов зависит, с одной стороны от выраженности образования в них активных форм кислорода (АФК), а с другой стороны, от эффективного функционирования механизмов уменьшающих или устраняющих действие АФК. Соотношение между тиоловыми и дисульфидными группами белков и пептидов, отражает баланс между выраженностью образования и действия АФК и эффективностью функционирования редокс-систем клетки, прежде всего, системы глутатиона.

Изменение степени окисления SH- белков может оказывать существенное влияние как на тонус коронарных сосудов, так и на сократительную активность миокарда. Это обусловлено изменением функциональной активности протеинов ионных каналов, протеинкиназ, фосфатаз и других белков, регулирующих функции клетки. Известно также, что при иммобилизационном стрессе существенно увеличивается образование АФК [3,4].

Цель настоящего исследования - изучить взаимоотношения между стрессобусловленным изменением активности ПОЛ, редокс-состоянием клеток сердца и эритроцитов, а также тонусом коронарных сосудов и сократительной функцией миокарда.

Материалы и методы исследования

Опыты были проведены на 35 крысах-самках линии Вистар массой 180-240 г., разделенных на 2 группы: 1-я контрольная, 2-я – крысы, перенесшие 6-ти часовой иммобилизационный стресс. Стресс вызывали посредством 6-ти часовой иммобилизации крыс на спине без фиксации головы (с 8.00 до 14.00). Пробы для биохимических исследований и извлечение сердца осуществляли спустя 90 минут после окончания иммобилизации. Контрольные крысы не подвергались стрессу. Они содержались в таких же условиях, как и опытные крысы и получали такой же рацион питания.

Исследования объемной скорости коронарного кровотока и сократительной функции миокарда проводили на препарате изолированного по Лангендорфу сердца крысы. Запись кривой внутрижелудочкового давления осуществляли на полиграфе "Мингограф-81".

Интенсивность базального образования NO определяли по концентрации продуктов его деградации (NO_2/NO_3), содержащихся в плазме крови. Определение суммарного содержания нитратов и нитритов в плазме проводили методом Грисса. Конверсию нитратов в нитриты осуществляли металлическим цинком, обработанным аммиачным комплексом сульфата меди [2]. Для оценки интенсивности свободнорадикального окисления в миокарде определяли концентрации диеновых конъюгатов (ДК) нм/г липидов, малонового диальдегида (МДА) мкМ/г белка. Белок определяли биуретовым методом [2], МДА, - пробой с тиобарбитуровой кислотой [1]. Содержание белковых и небелковых тиоловых групп определяли спектрофотометрическим методом [6], при длине волны равной 412 нм. Общие тиоловые группы – по методу, предложенные Thannhauser et al. (1984), в реакции с НТСБ [7]. Содержание дисульфидных групп рассчитывали по разнице между концентрацией общих и восстановленных SH- групп. Активность антиоксидантных ферментов – каталазы [5], супероксиддисмутазы (СОД) [8], глутатионредуктазы (ГР) [9], глутатионпероксидазы (ГП) [10] определяли с использованием традиционных методов.

Результаты и их обсуждение

В изолированных сердцах крыс перенесших 6-ти часовую иммобилизацию отмечалось увеличение ОСКП на 22-28% при ПД 60-120 мм. рт. ст., а развиваемое внутрижелудочковое давление снижалось на 45-34%. Диастолическое внутрижелудочковое давление между группами достоверно не различалось. Интенсивность перфузии изолированного сердца крыс после иммобилизационного стресса при всех уровнях перфузионного давления была достоверно выше, чем в контроле на 83,2%. Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что стресс вызывал к хорошо выраженную абсолютную и относительную гиперперфузию миокарда, на фоне сниженной сократительной функции миокарда.

Концентрация продуктов перекисного окисления липидов в миокарде существенно увеличивалась после иммобилизационного стресса: концентрация ДК увеличивалась приблизительно в 2 раза, а концентрация МДА – в 3 раза (таблица 2). После иммобилизационного стресса изменилась также активность антиоксидантных ферментов в миокарде: активность СОД снижалась, активность ГР и ГП увеличивалась, а активность каталазы достоверно не изменялась (таблица 2).

Таблица 1

ОСКП, развиваемое внутрижелудочковое давление, диастолическое внутрижелудочковое давление и интенсивность перфузии миокарда после 6-ти часового иммобилизационного стресса

Показатель	Группа	Перфузионное давление, мм рт.ст.				
		40 мм	60 мм	80 мм	100 мм	120 мм
ОСКП в изометрически сокращающемся сердце крыс, мл/(мин·г)	контроль	45,2±7,9	83,3±9,68	112,7±9,3	127,9±13,7	144,8±14,5
	стресс	44,3±6,6	87,7±13,3	137,3±5,6*	184,0±8,7*	200,2±9,9*
Развиваемое внутрижелудочковое давление, мм рт.ст.	контроль	37,3±8,7	90,1±4,4	113,0±8,7	114,5±8,6	120,0±17,0
	стресс	24,5±8,0	49,5±6,9*	70,3±2,4*	80,3±7,9*	79,3±1,4*
Диастолическое внутрижелудочковое давление, мм рт.ст.	контроль	7,0±1,5	4,5±1,8	3,7±0,6	4,6±1,2	7,6±2,4
	стресс	5,2±1,4	5,6±3,2	7,3±2,4	8,2±3,4	8,6±3,2
Интенсивность перфузии мл·мм рт.ст. ⁻¹	контроль	0,32±0,02	0,36±0,05	0,41±0,03	0,47±0,06	0,46±0,03
	стресс	0,60±0,08*	0,83±0,06*	0,83±0,07*	0,89±0,08*	0,96±0,07*

Примечание: * - достоверность ($p < 0,005$) по отношению к контролю.

Таблица 2

Концентрации продуктов деградации NO – нитратов/нитритов в плазме крови, концентрация ДК, МДА и активность антиоксидантных ферментов в миокарде после 6-ти часового иммобилизационного стресса

Группа	ДК, нмоль/г липидов	МДА, мкмоль/г белка	нитраты/нитриты ммоль/л	Каталаза, мкМ/г белка за 1 мин	СОД, Ед/г белка за 1 мин	ГР, мкМ/г белка за 1 мин	ГП, мкМ/г белка за 1 мин
Контроль	104,8±6,5	92,7±6,1	14,11±0,26	3,74±0,31	283,8±26,5	0,61±0,09	7,48±1,42
Стресс 6	206,5±16,7*	279,8±26,2*	18,11±0,43*	3,49±0,09	186,11±11,9*	1,42±0,14*	13,1±2,8*

Примечание: * - достоверность ($p < 0,005$) по отношению к контролю.

После 6-ти часовой иммобилизации крыс концентрация белковых SH- групп в миокарде снизилась в 2,3 раза. Эти изменения выявлялись на фоне уменьшения содержания небелковых SH- групп. В то же время, в эритроцитах наблюдалось снижение концентрации небелковых тиоло-

вых групп на 30,3% и увеличение содержания небелковых SS- групп в 2,6 раза, а тиол/дисульфидное соотношение уменьшилось в 3,3 раза (таблица 3).

Таблица 3

Содержание белковых и небелковых SH- групп в миокарде, а также тиол/дисульфидное соотношение в эритроцитах после 6-ти часового иммобилизационного стресса

Группа	Эритроциты небелковые группы			Миокард	
	SH- мкМ/г Hb	SS- мкМ/г Hb	SH/SS-	Белковые SH- группы мкМ/г белка	Небелковые SH- группы мкМ/г белка
Контроль n=12	14,89±0,57	2,27±0,09	6,45±0,34	5,02±0,39	4,01±0,28
Стресс 6 часов n=8	10,39±0,56*	5,86±0,58*	1,88±0,2*	2,18±0,22*	3,130,22**

Примечание: * - ($p < 0,02$) достоверность по отношению к контролю.

В целом эти изменения свидетельствуют о возникновении выраженного окислительного стресса в клетках миокарда и нарушения их редокс-состояния после 6-ти часовой иммобилизации крыс. Повышенное образование АФК и NO в эндотелии кровеносных сосудов при иммобилизационном стрессе вполне может быть одной из важнейших причин изменения небелкового тиол/дисульфидного соотношения в эритроцитах в пользу увеличения SS- групп. О повышенном образовании NO в эндотелии свидетельствует увеличение содержания в плазме крови нитратов и нитритов. Известно, что снижение тонуса коронарных сосудов и уменьшение сократительной активности миокарда после иммобилизационного стресса обусловлено повышенным образованием оксида азота и АФК [4]. При сочетанной повышенной продукции АФК и NO могут создаваться условия для образования пероксинитрита и N_2O_3 . Поэтому при иммобилизации в клетках миокарда и коронарных сосудов, вероятно, возникает не только окислительный стресс, но и усиливается действие активных форм азота. Так как уменьшение содержания белковых SH- групп в миокарде происходило на фоне увеличения содержания продуктов ПОЛ и несмотря на повышение активности ГР и ГП, то вполне можно заключить, что при иммобилизационном стрессе значительно нарушается редокс-состояние клеток сердца. Возможно, изменение редокс-состояния кардиомиоцитов и клеток коронарных сосудов представляет собой универсальный механизм, ответственный за нарушение сократительной активности миокарда и снижение тонуса сосудов сердца при стрессе.

Литература

1. Андреева Л.И., Кожемякин В.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. // Лабораторное дело. – 1988. – N.11. – с.41-43.
2. Веремей И.С., Солодков А. П. Восстановление NO_3 в NO_2 цинковой пылью в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди. // Сборник научных трудов. – Витебск, 1999. – С.274-277.
3. Шебеко В.И. Эндотелий и система комплемента. Витебск: ВГМУ, 1999. – С. 108–116.
4. Солодков А.П. Эндотелиальные механизмы изменения сосудистого тонуса: Автореф. дис. д-ра мед. наук. – Витебск: ВГМУ, 1998. – 28 с
5. Метод определения активности каталазы. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И. Г., Токарев В.Е.// Лаб. Дело. – 1988., N1. – С. 16-19.
6. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups.// *Arh. of Bioch and Bioph.* – 1959. - Vol 82. – P. 70-77
7. Thannhauser T., Koniah V., Scherada H. Sensitive quantative analysis of disulfide bonds in polypeptides and proteins. // *Analyt. biochem.* – 1984. - Vol. 138, N 1. - P. 181-188.
8. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: impruved assays and assay applicable acrilamide gels. // *Analyt Biochem.* - Vol.44, N 1.- P.276-287.
9. Ohyashiki T., Mohri T. Increase in the molekular rigidity of the protein conformation in the intestinal brrush-border membranesby lipid peroxidation. // *Biochem. And Biophys. Acta: Biomembranes.* – 1988. – Vol. 939 (M.157), N2 – P. 383-392.
10. Hateman D., Sunde R., Noekstra W. Effect of directory selenium onery-trocyte and liver glutatione peroxidase in the rat. // *Nitriton.* – 1974. – Vol. 104, N 5. – P. 580-587.

РОЛЬ ЭНДОТЕЛИЯ В РЕГУЛЯЦИИ РЕАКТИВНОСТИ АОРТЫ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ ТИРЕОИДНЫМ СТАТУСОМ

Лукша Л.С.

Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Минск

Введение

Нарушения системы кровообращения при дисфункциях щитовидной железы, в значительной степени, определяют клинику тяжесть и исход этих заболеваний. При гипертиреозе увеличивается сердечный выброс, усиливается сократимость миокарда на фоне падения общего